云 南 植 物 研 究 1998，20（3）：351～354
Acta Botanica Yunnanica

除虫菊的组织培养*

陈宗莲 侯岁稳** 俞宏渊
（中国科学院昆明植物研究所，昆明 650204）

摘要 本项研究是在已选育出的40个除虫菊优良无性系个体的基础上进行的，旨在为除虫菊商业化开发和良种的有效保存寻求新的途径。试验材料主要以芽条为外植体，在培养基上直接诱导出芽取得十分理想的结果，从取材至直接诱导出芽需 10～15 d；再经分化、增殖后转入继代培养、生根、出瓶过渡直至移栽定植至大田需 110～135 d，移栽成活率高。

关键词 除虫菊，组织培养，芽条，继代培养，种质保存

分类号 Q 945

Tissue Culture of *Pyrethrum cinerariifolium*

CHEN Zong－Lian HOU Sui－Wen YU Hong－Yuan
（*Kunming Institute of Botany*，*The Chinese Academy of Sciences*，Kunming 650204）

Abstract This study of tissue culture of *Pyrethrum cinerariifolium* Trev. has been on basis of selected 40 clones which progressed for several years with the current teamer. We sought to make new ways that could be more fast breeding for commercialize development and preservel these materiala of clones. Through a series of experiment，it has found that to take bud－shoots vaccinated and induced sprouting in MS medium diretly could obtained a fine result. As a general rule from pick down the bud－shoots to germination in MS medium，these has always needs 30～40 days，on these basis it has been into next continual growing stage until taken the young plants transfer to fields，this course as usually needs 110～135 days，it would be benifit increase in survival rate.

Key words *Pyrethrum cinerariifolium*，Tissue culture，Bud－shoots，Continuer growing，Preservel character

除虫菊（*Pyrethrum cinerariifolium* Trev.）原产欧洲，对它的研究和利用已有近百年历史（Casida，1973），本世纪初除虫菊在世界各地广泛栽培，40年代起曾在我国华东、新疆、贵州和云南等省区引种，近期出现品种退化，直接影响干花的产量和质量。在50年代至70年代世界除虫菊干花的主产国一度受到人工合成杀虫剂的冲击，80年代以来随着人们对环境保护意识的增强，除虫菊的应用研究又重新得到亲睐，利用除虫菊的头状花序（简称花头）经抽提和加工后获得的除虫菊酯，具有快速、高效、安全的优点，对环境无污染，对人体（包括哺乳动物）无毒、无积累而再次赢得市场，但近期世界原除虫菊干花生产国，因受多种因素干扰产量直线下降（Casida，1973），重新寻找新的生产基地已势在必行。昆明植物研究所接受外商的委托进行栽培技术和良种选育等方面的研究，为除虫菊的商业化开发作技术上的准备，并

*云南省自然科学基金资助项目 96－C－002
**现工作单位 兰州大学生物系 730000
1997－07－29收稿，1998－03－06接受发表

在此基础上利用组培技术解决无性系种质保存的途径。

1 材料和方法

从已选出的40个无性系个体为基础在10~3月从母株上选取芽条或花蕾作外植体，芽条长约1 cm，花蕾宜选择直径小于0.8 cm的幼蕾，接种前进行常规消毒，培养基在MS基础上添加不同浓度的奈乙酸(NAA)和激动素(6-BA)，根据外植体在培养基上生长的状况，转接时分别选用不同组合的培养基，以适应不同无性系外植体顺利通过从芽诱导—增殖—(复壮)—生根—出瓶。培养基的pH值为5.4~5.6，常规高压灭菌，试管苗培养温度为20~28℃，光照12 h/d，光照强度1 500~1 800 lx。

2 试验结果

2.1 芽诱导期植物激素对以芽条为外植体的影响十分显著，接种10~15 d后，芽条上直接有新芽诱出。随机选用3个无性系为试验材料，不同组合条件表现出芽诱导数、新芽长和生长状况方面表现出一定差异(表1)。

表1 植物激素与芽条初期培养*

Table 1 The initiation culture of bud - shoot with phytohormone

	CK	NAA (mg/L)		6-BA (mg/L)		NAA+6-BA (mg/L)		
	MS	0.1~0.5	1.0~2.0	0.1	1.0	0.25+0.1	0.25+1.0	2.0+1.0
	A	B	C	D	E	F	G	H
诱导芽数(个)	1.0	1.1	1.0	2.0	7.4	1.0	4.9	2.0
新芽长(cm)	5.0	5.0	5.0	2.4	2.6	3.1	3.8	0.8~1.8
生长状况	单芽健壮	色绿健壮	生长不良	长势中等	长势中等叶片卷曲	长势中等	叶绿健壮	生长不良叶卷曲发黄

* 试验材料 B7, B10, B21.

由表1结果可知(1)6-BA对芽诱导的影响十分显著(颜昌敬，1990)，在高浓度时单独使用诱导出的新芽数为对照的6.4倍，但对芽的生长有不良影响，新芽长仅为对照的1/2，且叶片卷曲有变态现象。(2)NAA单独使用时无明显效果，当NAA与高浓度的6-BA配合使用时(表1：G)表现出较好效益(裘文达，1982)，新芽诱导数比对照高3．9倍，同时新芽健壮是芽条初期培养阶段较为理想的组合。

2.2 以花蕾为外植体时，对照及单用NAA组的培养基无愈伤组织和无任何形式的不定芽产生(表2：A~C)在单独使用高浓度的6-BA时(表2：D~E)有新芽诱出；在NAA+6BA的培养基上(表2：F~G)形成的愈伤块大，可分化出12~15个新芽，但幼芽十分细弱，长仅为2~7 mm，进一步分离时较为困难，对继代培养产生不利影响。

表2 植物激素与花蕾诱导*

Table 2 Induction culture of flower bud with phytohormone

	MS	NAA (mg/L)		6-BA (mg/L)		NAA+6-BA (mg/L)	
		1.0~2.0	5.0~9.0	1.0~2.0	5.0~9.0	0.25+1.0	0.4+2~5
	A	B	C	D	E	F	G
出芽天数(d)	0	0	0	25	20	35	35
再分化天数(d)	0	0	0	30	30	35	35
新芽数(个)	0	0	0	4~9	8~19	8~12	12~25
新芽长(mm)	0	0	0	2	2~5	2~4	4~7

* 试验材料 A2

2.3 不同外植体对芽诱导的影响十分显著（表 3），通过对无性系取材部位初步培养结果的比较，为其他无性系的繁殖积累了一定经验，对其他无性系个体都采用芽条直接诱导的方法，大大缩短了初期培养阶段的时间，新芽生长健壮，利用芽条为外植体诱导出的新芽数为花蕾诱导芽的 7 ~ 17 倍，这对继代培养十分有利。

2.4 通过初期培养从原外植体上切下诱导出的新芽，转入新的培养基而进入增殖期。通过对新培养基组合的筛选，观察到此时新芽对细胞分裂素的影响比较敏感，当添加 6 - BA 0.3 ~ 20 + NAA 0.25（mg/L）时均产生良好的增殖效果，40 个无性系个体增殖的有效芽平均为 5 ~ 6 个。通过对 A3、A9、A11，B1、B6、B12、B26，C2 等几个无性系的增殖培养代数和实际出苗数相比较，计算求得每代平均有效芽的增殖数为 3.63（按除虫菊组培苗的实际生产为 8 代/年、出瓶过渡成活率为 94%计）可以推算出一个有效芽在一年内的繁殖量不低于 3.68 × 94% = 26 518（株）虽然这里是一个推算结果，现以 C2 为例来说明。C2 是从国外新引入品种的植株，由于原产地与昆明地区的生态环境差异较大，引进苗的成活率仅为 5%，我们利用仅剩的一株苗作母本，利用组培方法在 150 d 后培育出 300 株能直接定植于大田的壮苗，有效地保存了该品种的种质资源。

表 3 不同外植体对芽诱导的影响

Table 3 The effect of induction in differ from explantation

Item	bud - shoots	flower - buds
激素（mg/L）	6 - BA1.0 + NAA0.4	6 - BA5.0 + NAA0.4
诱导过程	直接	先形成愈伤组织再分化
出芽天数（d）	10 ~ 15	20 ~ 30
再分化天数（d）	35 ~ 40	50 ~ 70
诱导芽数（个）	6	8 ~ 25
新芽长（mm）	40 ~ 43	2 ~ 7
新芽生长情况	健壮	细弱

2.5 NAA 对提高生根率和促进根系的生长作用显著，添加 NAA 0.2 ~ 1.0（mg/L）后生根培养 10 ~ 15 d，生根率达 100%明显高于对照，初生根粗壮，为试管苗的顺利过渡打下了基础。

2.6 除虫菊属光敏感植物，试管苗过渡期中应注意逐步提高小苗对光照的适应性。出瓶后先移入置有 50%遮阴网的温室 7 ~ 10 d 后再移入土袋，经培育 2 ~ 3 周，小苗高 5 ~ 6 cm，具 6 ~ 8 片叶时就可移至露地，为定植于大田作准备。在露地培养一周后进行组培苗成活情况的调查和统计，40 个无性系个体共培育了近 5 000 株组培苗，总成活率为 98.8%，高于出瓶成活率 94%的预期目标。

3 讨论

通过对不同外植体芽诱导的比较，除虫菊快速繁殖材料以选取芽条是最合适的，在适宜的培养基上单个芽在较短的时间内可直接诱导出 4 ~ 7 个健壮的新芽，再用它来继续增殖、生根，都取得了良好效果。用芽增殖的方法是不通过愈伤组织再分化的途径，有利于保持植物的遗传稳定性（陈正华，1986），从而可以达到良种快速繁殖和保存的目的。而以花蕾为外植体时诱导出的不定芽要经过愈伤组织的脱分化和再分化，通过这种途径得到的植株发生变异较多（裘文达，1986），虽然每个愈伤块能产生较多不定芽，但是分化出的新芽十分细弱（2 ~ 7 mm），对继续增殖、生根和出瓶过渡都不利，因此在本试验中没有继续采用。把组培技术应用于除虫菊的快速繁殖，有利于保持无性系的稳定性，与传统的无性繁殖方法相比，具有繁殖速度快，增殖周期短，较少受季节与环境条件的影响，育成的苗健壮并具有良好的遗传稳定性，是获得优质高产的基础。从取材—诱导—增殖—生根—过渡至定植于大田，整个培育过程为 120 ~ 150 d，有

效育成率达94%以上。

通过本项研究顺利地解决了除虫菊无性系种苗的离体保存问题。通常在除虫菊苗定植后，为了保持花的品质和干花产量，在两年后必需进行更新（Parlevliet，1974），对大部分无性系植株来说，在昆明地区利用分根繁殖是可行的，然而经常受气候等因素的制约，特别在冬、春干季时这些分根植株长势弱，产生的花枝数少，直接影响干花产量；而种子繁殖可以获得健壮的籽苗，但是除虫菊是自花传粉有着孢子不亲合（不育）规律（Parlevliet，1971），属异花授粉植物，如果没有特殊的隔离条件，一个优良品系的性状是无法加以长期保持，因而种质的退化是不可避免的，在其他省区已出现过类似问题；应用组培技术有可能对已选育出的40个无性系个体种苗进行有效的离体保存，与长期保留母株的方法相比较，不仅省工、省时而且可以节约大量的田间管理费用。1997年初我们对已保存一年多的无性系试管苗进行复壮，全部无性系又重新培育出新一轮的组培苗，定植后生长情况良好，可望在1998年再获得丰产。

组培技术应用于除虫菊的快繁与无性系离体保存方面，圆满地完成了预期目标。但是不可否认培育组培苗的生产成本是大大高于籽苗的培育，从今后商业性开发的角度来看，除虫菊酯制造工业的生产成本，特别是农业生产成本，是直接影响整个工业生产的关键，一旦进入商业开发，原料的规模化生产时种植面积需万亩以上，目前的组培室无法全部满足育苗要求，除非组建一个大规模的组培繁育场，这需大量的投资，因此从实际情况出发，为了充分利用组培苗具有良好的遗传稳定性的特点，有必要考虑根据商业化发展的具体规模建立良种繁育基地，把培育的组培苗作为基地的留种植株，利用组培苗获得良种种子，再用于大田生产，这样可以压缩组培的规模降低生产成本，同时又可避免长期的种间自然杂交，导致品种的退化直接影响干花的产量和质量，优质高产的原料是推动菊酯工业发展和经济效益的重要保证，这些应用研究成果，将直接有效地为商业化生产服务。

参 考 文 献

陈正华，1986．木本植物组织培养及其应用．北京：高等教育出版社，33～34

裘文达，1982．菊花名种“绿牡丹”组织培养快速繁殖研究．浙江农业大学学报，**18**（1）：89～90

裘文达 编，1986．园艺植物组织培养．北京：科学出版社，30～31

颜昌敬，1990．植物组织培养手册．上海：上海科学技术出版社，77～78

Casida John E，1973．PYRETHRUM the natural insecticide．New York and London：Academic Press．3～22

Parlevliet L E，Brewer J G，1971．The Botany，Agronomy and Breeding of *Pyrethrum*，*Chrysanthemun cinerariaefolium* Vis．，Kenya：Ministry of Agriculture Press，3～8

Parlevliet J E，1974．The genetis variability of the yield components in the Kenya *Pyrethrum* population．*Euphytica* **23**：377～378